第33卷 第2期 | 昆虫学报 | Vol. 33, No. 2
1990年5月 | ACTA ENTOMOLOGICA SINICA | May, 1990

# 数种癞蝗酯酶同工酶的比较研究及其在分类上的应用*

黄　原　　郑哲民
(陕西师范大学动物研究所，西安)

**摘要**　本文应用聚丙烯酰胺凝胶电泳方法分析了癞蝗科三属及一种共十四个种群的酯酶同工酶(EST)，结果证明EST在属内具有某些共性。同一种群的个体不存在明显的差异，不同种群间略有差异，而种间则差别非常明显。生化和形态特征结合进行的聚类分析提出将短鼻蝗属的三个类群提升到属或亚属的地位，同时还支持将种群7C和9独立成新种。

**关键词**　癞蝗科　酯酶同工酶　电泳　聚类分析

近年来，同工酶电泳技术广泛应用于昆虫分类中，很多研究证明酯酶同工酶(EST)在较低级阶元中具有分类鉴别特征(缪建吾等，1980；叶炳辉等，1984；曹关良等，1985；郑哲民等，1986；李绍文等，1987)。本文用聚丙烯酰胺凝胶电泳方法测定了癞蝗科(Pamphagidae)三属及一种的EST，比较了EST的属间、种间及种群间的差异，并将电泳数据结合形态特征进行了聚类分析，从生化和数值分类两方面面探讨癞蝗的分类。

## 材料和方法

材料：实验所用材料的收集情况见表1。这些标本多冷冻保存于冰箱中，少数活体作对照。电泳样品均采用单个个体的后足股节匀浆分离液。

方法：

**1.** 电泳：采用聚丙烯酰胺凝胶电泳方法，分离胶浓度7.7%(W/V)，pH 8.9；浓缩胶浓度3.1%，pH 6.7；电极缓冲液为Tris-Gly，pH 8.3；电泳过程约4小时。胶板经染色固定后，在Densitron Micon 20光密度扫描记录仪上进行扫描，并测定各组分的相对迁移率($R_m$)，最后照像并制成干板保存。实验中除少数仅有单个个体外，其它均做2—4个样品，每个样品重复2—3次。

**2.** 聚类分析：将实验所得14个种群的各同工酶组分的$R_m$值(13项)结合数值化的外部形态特征(14项)进行了聚类分析。原始数据由14个分类运算单位和27项特征组成，数据经标准化处理后计算了相关系数和距离系数，在此基础上采用类平均法(UPGMA法)进行聚类运算。数据处理和聚类运算在MV/6000计算机上进行，编制程序用的是AOS/VS BASIC语言。

---

本文于1988年1月收到。
* 本文承蒙夏凯龄、张凤岭先生审阅并指正，特此致谢。

表1 研究材料的收集情况

| 种名 | 编号 | 数量 | 采集时间 年、月、日 | 采集地点 |
|---|---|---|---|---|
| 友谊华癞蝗 *Sinotmethis amicus* Bei-Bienko | 1 | 4♀ 2♂ | 86.8.6 | 甘肃酒泉 |
| 短翅华癞蝗 *Sinotmethis brachypterus* Zheng et Xi | 2 | 2♀ | 86.8.13 | 甘肃民勤 |
| 癞短鼻蝗 *Filchnerella pamphagides* Karny | 3 | 3♀ | 86.8.30 | 兰州(皋兰山) |
| 小翅短鼻蝗 *Filchnerella micropenna* Zheng et Xi | 4 | 1♀ | 86.8.29 | 甘肃临夏 |
| 永登短鼻蝗 *Filchnerella yongdensis* Xi et Zheng | 5 | 5♀ 3♂ | 86.8.20 | 甘肃永登 |
| 裴短鼻蝗 *Filchnerella beicki* Ramme | 6A | 2♀ | 86.8.22 | 甘肃靖远 |
| 同上 | 6B | 2♀ | 86.8.23 | 宁夏海原 |
| 青海短鼻蝗 *Filchnerella kukunoris* Bei-Bienko | 7A | 3♀ 2♂ | 86.8.11 | 甘肃山丹 |
| 同上 | 7B | 5♀ 2♂ | 86.8.15 | 甘肃武威 |
| 同上 | 7C | 2♂ | 86.8.13 | 甘肃民勤 |
| 肃南短鼻蝗 *Filchnerella sunanensis* Liu | 8 | 9♀ 6♂ | 86.8.8 | 甘肃肃南 |
| 突颜蝗 sp. *Eotmethis* sp. | 9 | 1♂ | 86.8.25 | 宁夏石咀山 |
| 景泰突颜蝗 *Eotmethis jintaiensis* Xi et Zheng | 10 | 10♀ 5♂ | 86.8.18 | 甘肃古浪 |
| 天祝突颜蝗 *Eotmethis tietsuensis* (Chang) | 11 | 8♀ 6♂ | 86.8.19 | 甘肃天祝 |

## 结果与分析

采自十四个不同地区的十一种癞蝗的EST电泳结果见图1—4。EST在这些类群中出现的酶带数目有6—9条，其中大多数种为7条。各同工酶组分在各种中出现的频率可以看出，癞蝗酯酶可以分成迁移率慢和快的两种，这里分别称之为EST-s和EST-f。EST-s的$R_m$值为0.14—0.49，EST-f的$R_m$值为0.50—0.84，各组分的编号从负极向正极依次进行。下面进行的各种比较，均采用雌性个体的电泳结果（但突颜蝗 *sp.* 仅有一雄性）。

（一）癞蝗酯酶同工酶的属间差异

华癞蝗属、短鼻蝗属和突颜蝗属，是形态相近而又属征明显的三个属，从它们的酶谱上看(图1、2)，属间各种的差别大于属内各种，属内各种的EST具有某些共性。华癞蝗属酶谱的特征是具有较多的酶带(8—9条)，其中EST-f均有5条活性相近的酶带。短

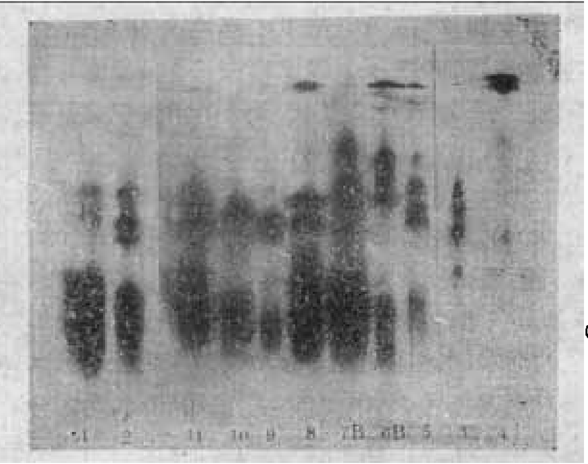



图 1　十一种癞蝗酯酶同工酶电泳图

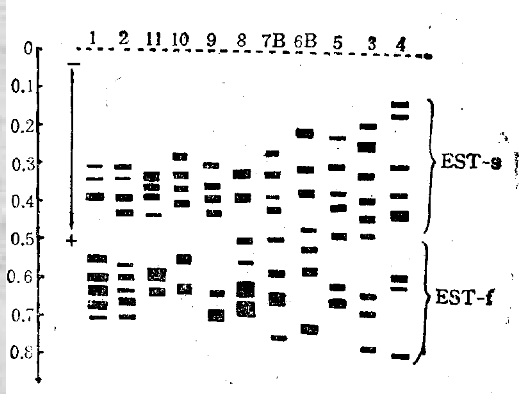



图 2　十一种癞蝗酯酶同工酶电泳模式图

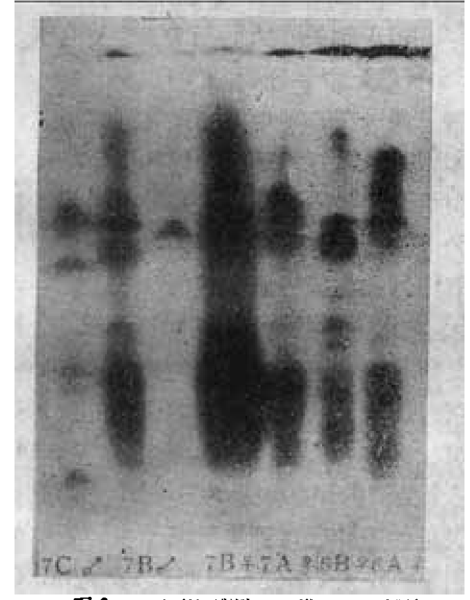



图 3　二种癞蝗酯酶同工酶地区变异的比较

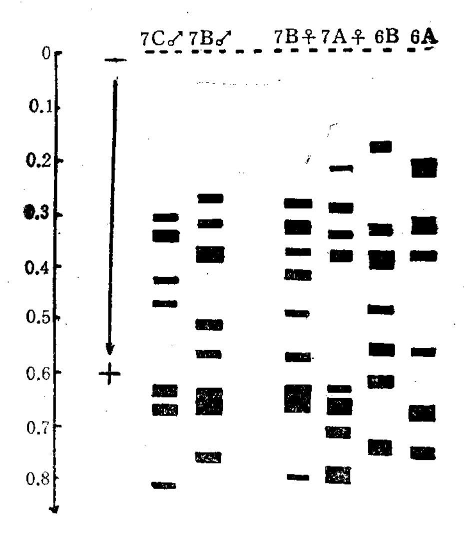



图 4　二种癞蝗酯酶同工酶地区变异的模式图

鼻蝗属 6 个种的 EST 酶谱变化较大，酶带数目 6—9 条，EST-f 有 3—4 条。突颜蝗属 3 个种均有 6 条带，其中 EST-f 2 条。由此可见，EST 在癞蝗属的鉴定上也有一定的参考价值。

（二）癞蝗酯酶同工酶的种间差异

由图 1.2 可见，友谊华癞蝗和短翅华癞蝗的酶谱相近，前者 8 条带，后者在 EST-s 中多出一条小带，共 9 条。两种中有 3 条酶带的 $R_m$ 有所不同。短鼻蝗属的 6 个种其酶谱可分为三种类型：癞短鼻蝗和小翅短鼻蝗，EST-s 分别有 6 条和 5 条，各占酶活性总量的 94% 和 75%；EST-f 均为 3 条，各酶带的 $R_m$ 也有所不同。永登短鼻蝗、裴短鼻蝗和青海短鼻蝗三种的酶谱相近，前两种的 EST-s 均为 4 条，EST-f 3 条，EST-s 活性略高，分别为 58.5% 和 57.6%；后一种有 8 条带，EST-f 活性较强，占 60%，三个种的 $R_m$ 值也各有差异。肃南短鼻蝗仅 6 条带，EST-s 2 条，活性以 EST-f 为主，占 75.6%。突颜蝗

属的三个种均有 6 条酶带，EST-s 4 条，其中突颜蝗 *sp.* 中 EST-f 活性占 66.4%，它的 EST-s-3 及 EST-f-2 的 $R_m$ 值与景泰突颜蝗不同，EST-s-1 及 EST-f-2 的 $R_m$ 值与天祝突颜蝗不同。景泰突颜蝗 EST-f 占 67%，它的 EST-s-1、2 及 EST-f-1 与天祝突颜蝗不同。天祝突颜蝗中两组同工酶活性相近。

（三）癞蝗酯酶同工酶的地区变异

本实验比较了二个种的地区变异（见图 3、4），采自甘肃靖远（6A）和宁夏海原（6B）的标本，形态上非常相似，反雌性前翅长短不同，都被鉴定为裴短鼻蝗，但 EST 差别较大，种群 6A 有 6 条带，而 6B 有 7 条，其中仅 3 条带在两种群中相同，同时其活性分布也很不一致。采自甘肃山丹、武威和民勤三个地区的标本，形态上相近，仅后股节内侧颜色和体形大小有变化，电泳结果表明种群 7A 和 7B 均有 8 条带，其中 5 条主要酶带相同，活性分布也相近。但 7C 与 7B虽都有 7 条带(以雄性对比)，但仅有 3 条相同，扫描曲线也显示了较大的差别。聚类分析结果也证明 7A 和 7B 相关性大而与 7C 相关性小。

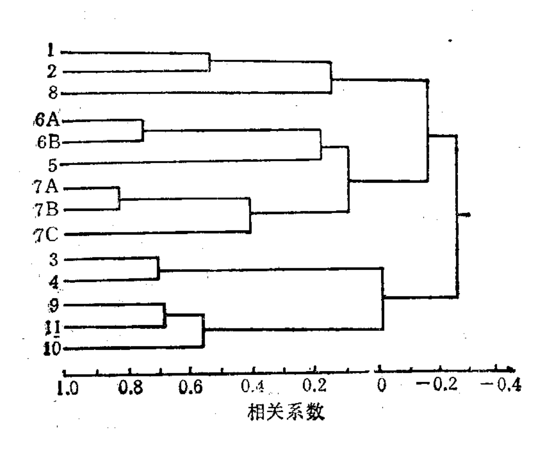



图 5 癞蝗的相关系数聚类图

（四）聚类分析

通过在二种相似性系数（距离系数和相关系数）基础上进行的类平均法聚类运算，最后选择相关系数的类平均法为最佳结果（见图 5）。聚类结果显示华癞蝗属和突颜蝗属两属内种间相关性大，在相关系数大于 0.5 时全部聚合。相反短鼻蝗属内的 6 个种的相关性较小，可以区分为与形态特征相符的三个类群：即小翅类（3 和 4），结合水平 0.84；短翅类（5—7），结合水平 0.19；长翅类（8）。这三个类群的聚合水平为 −0.25。由此可见，短鼻蝗属包含了差别较大的三个类群，这三个类群的差异已达到属级或至少是亚属的水平。聚类结果还显示种群 7A 和 7B 相近而与 7C 差异较大（相关系数 0.42），故 7C 可视为一个独立的种。6A 和 6B 的相关系数为 0.79，是变异较大的两个种群。

## 讨 论

种群和变异的观念早已被分类学家所接受，各种新技术和方法为分类学家所利用。然而在实践中传统的形态分类仍然是进行深入分类研究的前提和基础。每一种新的技术和方法仅是获得新的分类性状的手段，这些新特征和形态特征一样也有局限性，生化特征亦是如此。从目前看，通过电泳调查大量个体的许多位点而进行的进化关系研究适用于从种下到较高的分类阶元，而通过变异较大的个别位点进行的研究，则在属内或相近的属间最为有用（Avise，1974；Berlocher，1984）。限于材料，我们仅对癞蝗相近的三属及一种进行了比较，没有设计远缘种进行对比，但与用同法进行的其他研究相比(郑哲民等，1986)，EST 在斑腿蝗、锥头蝗和癞蝗的科级水平上归纳不出共同特征，而在癞蝗科的属级水平上显示了某些共同点。种内虽有地理变异存在，但同种群个体基本一致，而种间差

异非常明显，所以 EST 能作为癞蝗属种的分类指标。

郑哲民等 (1986) 和本实验结果都证明 EST 在蝗虫中存在性别差异，尽管实验样品中没有涉及到生殖器官和组织。EST 的性别差异表现在酶带数目、迁移率和活性强弱上，对进行种间比较有一定的影响，所以分类上务必用同性的相同组织进行比较。关于 EST 的地理变异，本文仅对五个地区的二个种进行了比较，从酶谱上看，种群 6A 和 6B 差异较大，在形态上则非常接近，两者的分类地位有待进一步探索。种群 7A 和 7B 的酶谱很相似，形态也相近，可视为同一种，而 7C 与 7A 和 7B 的酶谱差异较大，且 7C 个体大，后股节内侧端部黄褐色 (7A 和 7B 红色)，染色体分带研究也证明它们之间有差异，据此可考虑将 7C 独立成新种。关于种群内个体的 EST 变异，因限于标本数量，未能测定。

数量化学分类学是当前化学分类的主流。本文将生化与形态两方面的特征结合进行了聚类分析。聚类过程所采用的两种系数所获得的结果表明，相关系数比距离系数更能全面地反映出分类单元间的相似程度。距离系数受各性状数值的影响较大，在 R-分类 (对性状进行的分类) 中应用较好。相关系数的 UPGMA 法聚类结果，基本上支持按形态特征对这些癞蝗的划分，尤其显著地表明短鼻蝗属内变异程度已经达到了将该属按翅发达程度划分的三个类群提升到属或亚属的水平。

## 结　　论

由上面的结果分析和讨论，可得出以下结论：

**1.** 酯酶同工酶在同属内具有某些共性，同一种群不存在明显的个体差异，不同种群间略有差异，而种间差异非常明显，它可以作为癞蝗属种的一个分类指标。

**2.** EST 在癞蝗中存在着地理种群间的变异，这种变异的程度大小不一。

**3.** 聚类分析结果提出将短鼻蝗属的三个类群提升到属或至少是亚属的地位，同时支持将种群 7C 和 9 独立成新种。

**4.** 本研究说明同工酶的电泳技术并结合数值分类作为常规分类的辅助手段来验证及改进分类系统是有意义的。

## 参　考　文　献


叶炳辉等　1984　四种室内常见蜚蠊的酯酶同工酶和苹果酸脱氢酶同工酶的酶谱比较研究。动物学研究 5(4)：325—8。

李绍文等　1987　膜翅目昆虫酯酶同工酶的比较研究。昆虫学报 30(3)：266—9。

郑哲民等　1986　八种蝗虫酯酶同工酶的研究。陕西师大学报 (1)：52—9。

曹关良等　1985　六种赤眼蜂酯酶同工酶的比较研究。中山大学学报 (2)：73—80。

缪建吾等　1980　中国六种蚊虫酯酶同工酶的比较研究。昆虫学研究集刊，第 1 集，第 89—92 页。

Avise, J. C. 1974 Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.* 23: 465—81.

Berlocher, S. H. 1984 Insect molecular systematics. *Ann. Rev. Entomol.* 29: 403—33.

# A COMPARATIVE STUDY OF ESTERASES IN SOME PAMPHAGIDAE AND ITS APPLICATION IN TAXONOMY

HUANG YUAN ZHENG ZHE-MIN

*(Institute of Zoology, Shaanxi Normal University, Xi'an)*

The vertical slab polyacrylamide gel electrophoretic technique was used to separate the esterases from 14 populations of Pamphagidae. From the electromorphic patterns, some intra-generic common features of esterase were found. Esterases were seen to vary in the band number, relative mobility and staining intensity among the species. However, individuals of the same population showed no distinct difference. It was also indicated that esterase displayed geographic difference. The results of cluster analysis based on both biochemical and morphological characters suggest that the taxonomic status of the three groups of Felchnerella should be raised to the level of genus or at least subgenus, and the population 7C and 9 should be two unidentified species.

**Key words** Pamphagidae——esterase isozyme——electrophoresis——cluster analysis

**更正**：本刊 1988 年 31 卷第 4 期第 370 页外文摘要内的"diflubenzuron"均应为"dichlorbenzuron"。